

活性炭对旱半夏组织培养的影响研究

刘庆, 张小玲, 唐征, 罗天宽, 陈海英, 胡彩英

(温州市农科院生物工程技术研究所, 浙江 温州 325006)

摘要:旱半夏是名贵中药材。该文实验探讨了在旱半夏的诱导培养、丛生芽增殖及生根不同过程中, 添加不同浓度的活性炭对接种材料的影响。结果表明, 在旱半夏组织培养各环节的培养基中加入适当的活性炭, 能明显地促进外植体形成近似完整的再生植株。活性炭有明显地减弱培养基内光照的作用。在生根培养中加入活性炭使根的诱导率下降, 株高与平均根数大幅下降。

关键词:活性炭; 旱半夏; 诱导培养; 丛生芽增殖; 生根

活性炭为木炭粉碎经加工形成的粉末结构, 结构疏松, 有很强的吸附作用。它可以吸附非极性物质和色素等大分子物质, 包括琼脂中所含的杂质, 培养基分泌的酚、醌类物质以及蔗糖在高温高压消毒中所产生的 5-羟甲基糖醛及激素等。其在植物组织培养的各过程中应用有不同的影响。在旱半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.)] 的组织培养中应用活性炭已有报道, 其对旱半夏胚状体的诱导有极显著的诱导效应。本文考察了在旱半夏的诱导培养、丛生芽增殖及生根不同过程中, 不同的活性炭浓度水平对接种材料的不同影响, 探讨活性炭在旱半夏组织培养中的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理方法

取正在休眠或刚开始萌发的栽种 1~2 年的旱半夏块茎, 冲洗干净, 刮去外表粗皮, 用肥皂水洗净, 再用 75% 乙醇消毒 30s, 无菌水冲洗 1 次, 再用 0.1% 升汞消毒 12min, 无菌水冲洗 4 次, 然后在无菌条件下切成 2~3mm 左右的小块, 接种到诱导培养基上进行诱导培养, 每瓶接 4 块。

1.2 培养基及培养条件

以 MS 为基本培养基, 蔗糖浓度 3.0%, 琼脂 0.7%, pH 值为 5.8; 在诱导培养、丛生芽增殖及生根过程中分别添加激素 BA2mg/L+NAA0.5mg/L、BA2mg/L+NAA0.1mg/L、NAA1.0mg/L, 再加不同浓度的活性炭。培养温度为 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 每天光照 12 小时。

1.3 各培养方式与记载

(1) 诱导培养: 外植体接种到诱导培养基后观察愈伤组织、胚状体及根的出现时间; 30d 后称取外植体与愈伤组织的合计质量以计算外植体膨胀倍数; 40d 后记载丛生芽的诱导情况及出根情况。(2) 丛生芽增殖: 将丛生芽连同基部切成大小一致的小块, 每块带两个以上的芽, 接种到培养基中进行增殖培养, 30d 后记载增殖倍数, 芽及根的生长情况。(3) 生根培养: 切取单株接种到生根培养基中, 15d 后记录生根率、株高、根数及根长。

2 结果与分析

2.1 活性炭对诱导培养的影响

从表 1 可见, 培养基中加活性炭后, 愈伤组织诱导率变化不大, 从膨胀倍数看愈伤组织的诱导量变小; 但未加活性炭的培养基中诱导出的愈伤

表 1 不同活性炭浓度对旱半夏诱导培养的影响

活性炭浓度 (%)	外植体接种数 (个)	愈伤组织诱导率 (%)	膨胀倍数 (倍)	愈伤组织生长情况	胚状体出现时间 (d)	胚状体诱导率 (%)	平均芽数 (个)	生根情况
0	60	95.0	16.2	疏松, 白	22	25.0	1.6	多, 且在出芽前出根
0.2	60	92.3	10.1	致密, 绿	10	85.0	4.8	很少且在出芽后出根

组织结构疏松, 胚状体与芽出现时间晚, 诱导率低, 诱导量少, 而且容易生根, 不利于植株再生; 而加活性炭的培养基中诱导出的愈伤组织结构致密、泛绿, 胚状体与芽出现时间早, 形如珠芽, 诱导率高, 而且出根少, 有利于植株再生。

2.2 活性炭对丛生芽增殖培养的影响

由表 2 可见在增殖培养基中加入活性炭明显降低了丛生芽的增殖速率; 而且在浓度小于 0.2% 时, 浓度越高丛生增殖越慢, 而在浓度大于 0.2% 时, 浓度的变化对丛生增殖速率的影响不大。但在

表 2 不同活性炭浓度对旱半夏丛生芽增殖培养的影响

活性炭浓度 (%)	接种数 (个)	增殖倍数 (倍)	株高 (cm)	平均根数 (根)	平均根长 (cm)
0	60	4.8	2.4	0.2	0.5
0.05	60	3.0	0.9	0.9	0.8
0.2	60	2.5	1.0	0.7	0.6
0.8	60	2.6	1.1	0.9	0.6

增殖培养基中加入活性炭也明显促进了生根。而且试验中也观察到, 在未加入活性炭的培养基中, 丛生芽细长, 基部小, 顶端很少或很迟才有叶片展开; 而在加入活性炭的培养基中, 丛生芽在 1cm 高时顶端就有心形叶片展开, 基部膨大, 如正常发

芽生长的珠芽。

2.3 活性炭对生根培养的影响

由表 3 可见在生根培养基中加入活性炭使根的诱导率略微下降, 株高与平均根数大幅下降, 而根的长度明显伸长, 活性炭浓度越高根长越长。同

表 3 不同活性炭浓度对旱半夏生根培养的影响

活性炭浓度 (%)	接种数 (个)	根的诱导率 (%)	株高 (cm)	平均根数 (根)	平均根长 (cm)
0	50	96	3.4	14	0.43
0.05	50	88	1.5	3.2	0.61
0.2	50	86	1.6	2.2	0.60
0.8	50	86	1.4	2.0	0.78

时我们也观察到与增殖培养类似情况, 就是在未加入活性炭的培养基中, 植株细长, 基部小, 顶端很迟才有叶片展开, 绝大多数根都从底部愈伤组织分化而出, 根小而密; 而在加入活性炭的培养基中, 植株在 1cm 高时顶端就有心形叶片展开, 基部膨大, 大多数根从芽的基部长出, 形如正常珠芽的生根发芽。

综上所述, 在旱半夏组织培养各环节的培养基中加入适当的活性炭, 能明显地促进外植体形成近似完整的再生植株。在诱导培养中, 加入活性炭能促进结构致密的愈伤组织的形成, 明显促进胚状体与芽的诱导, 而且其芽形如珠芽, 能形成完整的再生植株; 在增殖培养中, 加入活性炭能促进丛生芽展开心形叶片, 基部膨大, 如正常发芽生长的珠芽; 在生根培养中, 加入活性炭同样能促进植株心形叶片的展开, 基部的膨大, 而且大多数根从芽的基部长出, 形如正常珠 (下转第 39 页)

3 小结与讨论

4 病虫害防治

4.1 病害防治

4.1.1 癌肿病 别名芽枯病,3~4月发生。在新梢新芽上产生黑色溃疡,呈芽枯症状,常使侧芽簇生,叶上病斑黑色有明显黄晕。被害果面溃疡粗糙,果梗表面纵裂。枝干被害初为黄褐色不规则斑点,表面粗糙,后生环纹状隆起开裂线,露出黑褐色木质部,呈癌肿状,引起枝干枯死。是一种细菌性病害,病菌在树干病部越冬。防治:①加强果园管理,注意肥水,增强果树抗病力,对病枝及时剪除,病叶、病果及时用火烧掉,清除病源。②发病初期(3月初)喷 800 倍大生米-45 或多霉清 1200~1500 倍液 1~2 次。

4.1.2 其它病害 主要有叶斑病、灰斑病、污叶病、紫斑病。以上几种病的综合防治方法:①清除落叶,结合修剪,除去病枝病叶,做好排水工作,加强管理,增强树势。②在新梢叶片长出后喷 1:1:160 的波尔多液保护或发病初期喷多霉清 1200~1500 倍液等。

4.2 虫害防治

4.2.1 黄毛虫 幼虫啮食枇杷的嫩芽嫩叶,发生多时叶子几乎被食光,幼树受害时损失更严重,以蛹在茧中附于树皮裂缝凹陷处或老叶背面越冬,5月成虫出现,产卵于叶背上,第一代6~7月危害叶片,第二代在7月中旬至8月中旬发生,第三代8月中旬至9月中旬发生,与枇杷嫩叶长出期相吻合,以1~2龄幼虫群集新嫩梢危害。幼虫褐色,后呈黄色,老熟幼虫体长20cm左右。防治措施:

关键在幼虫期,可用20%杀灭菊酯4000~5000倍液或2.5%溴菊脂3000倍液,2.5%灭幼脲3号悬浮剂1500~2000倍防治,冬季清园时清除越冬茧,结合人工捕杀1~2龄幼虫。

4.2.2 舟蛾 别名舟形毛虫,是危害枇杷叶片的主要害虫,专食老熟叶片,开始啃食叶肉,剩下表皮或仅剩主脉。一年发生1代,以蛹在树干附近的土中越冬,7月羽化,在傍晚活动。产卵于叶背,10余粒排成一块,8月下旬孵化,1~2龄虫群集危害,头向外整齐排列在一张或数张叶背上危害,被害叶成纱网状,一树上发生的虫口极多,早晚取食,很快将整株树的叶吃尽,幼虫受惊时有吐丝下垂假死现象。9~10月老熟幼虫入土越冬,幼虫初为黄色,后为紫褐色。防治措施:冬季中耕,挖除树干周围土中的蛹茧,8月下旬集中捕杀低龄幼虫。如果幼虫已散开取食,可选20%杀灭菊酯3000倍溶液或灭扫利3000倍溶液防治。

4.2.3 桑天牛 主要危害枇杷树干,幼虫先沿树皮啮食,然后进入木质部危害,引起枝条枯死。可用40%敌敌畏50倍溶液蘸入棉花后塞入蛀孔内,再用黄泥封堵洞口。

参考文献:

- [1]姚庆渭.实用林业词典.北京:中国林业出版社,1990年.
- [2]黄辉白.热带亚热带果树栽培学——果树学系列教材.北京:高等教育出版社,2003年.
- [3]吴汉珠,周永年.枇杷优质高效栽培.北京:中国农业出版社,2001年.

(上接第27页) 芽的生根发芽。

活性炭有明显地减弱培养基内光照的作用,在培养基中加入适当的活性炭,能明显地促进早半夏外植体形成近似完整的再生植株,可能是因为活性炭使得培养基内形成类似土壤中的黑暗环境,从而使组织培养如大田的块茎与珠芽繁殖,这将使活性炭在早半夏一步成苗的组培技术和人工种子生产技术上显著的作用。另外,在生根培养中加入活性炭使根的诱导率下降,株高与平均根

数大幅下降,可能是由于活性炭对生长调节物质的强吸附作用,从而大大降低了培养基中激素的浓度;这也是随意使用活性炭的副作用。

参考文献:

- [1]朱建华,彭士蛹.植物组织培养实用技术.北京:中国计量出版社,2002,30~31.
- [2]冉懋雄.中药组织培养实用技术.北京:科学技术文献出版社,2004,266~282.